

カウンターカチオンが引き起こす DNA 鎖切断： 化学反応動力学シミュレーション解析

(東北大院理¹、東北大多元研²)

○及川 啓太¹、菱沼 直樹¹、菅野 学¹、木野 康志¹、秋山 公男²、河野 裕彦¹

DNA strand break caused by counter cations: Analysis of chemical reaction dynamics

(Dept. Chem., Grad. Sch. Sci., Tohoku Univ.¹; IMRAM, Tohoku Univ.²)

○K. Oikawa¹, N. Hishinuma¹, M. Kanno¹, Y. Kino¹, K. Akiyama², H. Kono¹

【序】 DNA が放射線損傷を受けると、核酸塩基の脱離や二量体化、DNA 鎖切断が起こることが知られている。これらの現象は、近年、放射線による二次電子によっても引き起こされることが分かってきた。例えば Sanche らのグループにより、数 eV 程度の低エネルギー電子付加で鎖切断が誘起されるといった機構が提案された^[1]。その後の様々な研究から、①糖と核酸塩基の間の C-N 結合、②糖とリン酸基の間の C-O 結合、③リン酸基内の P-O 結合、の 3 箇所の切断 (図 1) が示唆されている^[2]。我々も、熱励起状態にある DNA の鎖切断シミュレーション (真空条件) を行い、①②の切断を確認した^[3]。しかし、これらの研究は DNA の周りの溶媒や Na⁺、K⁺、Mg²⁺ 等のカウンターカチオンの影響を考慮していなかった。本研究では、生体内の DNA を想定し、溶媒やカウンターカチオンが鎖切断にどのような影響を及ぼすかを解明する。放射線照射により励起した電子が緩和した後の状態を仮定し、DNA に高い熱エネルギーを与えた化学反応動力学シミュレーション (MD) の結果を解析することで、鎖切断の分子論的機構を探る。

【対象と手法】 DNA の周りに溶媒の水やカウンターカチオンが存在するモデルとして、X 線結晶構造が既知である 12 塩基対二本鎖 DNA [(CGCGAATTCGCG)₂]^[4] (図 2) を用いた。H₂O 148 分子、スペルミン 1 分子、カウンターカチオンとして Na⁺ 18 個、Mg²⁺ 1 個が含まれている。電子状態計算には、密度汎関数法 (DFT) に近い精度で高速計算が可能な密度汎関数強束縛 (DFTB) 法^[5]を用いた。その中でも、Kohn-Sham エネルギーを電荷揺らぎの 3 次展開式で記述する DFTB3^[6]を採用した。放射線によって DNA が高い熱エネルギーを得たと仮定し、溶媒やカチオンを除いた鎖部分のみに 1000~1500 K

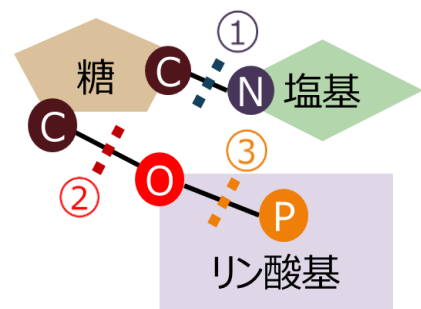


図 1 先行研究から示唆された DNA の切断部位
(①塩基脱離、②・③鎖切断)

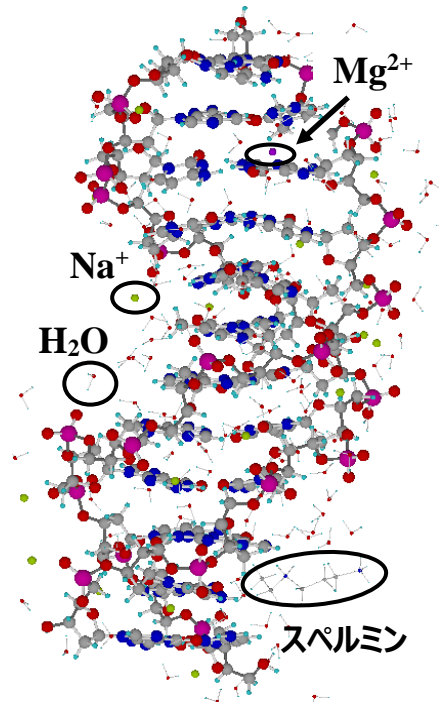


図 2 計算に用いた DNA 鎖
(鎖以外は縮小表示)

程度の熱エネルギー（1 原子当たり 0.3 ~0.4 eV の運動エネルギーを想定）を与えて、系全体の MD を行った。解析に当たっては、Mulliken 電荷とエネルギーの変化に着目し、分子の全ポテンシャルエネルギーを各構成原子に分割する「原子分割エネルギー法」を適用した。

【結果と考察】 MD の結果、溶媒中のカウンターカチオン Na^+ がリン酸基との間に中間体 ($\text{Na}^+\text{-O-P-O}$ の四角形構造、図 3) を形成した後に、リン酸基内の P-O 結合が切断（数ピコ秒以内）される解離機構を見出した。これは、図 1 中の③の切断で、真空条件のシミュレーションでは見られなかったものである。中間体形成によって② C-O 切断と③P-O 切断の解離エネルギーの大小関係が入れ替わり、P-O 結合近辺に数 eV のエネルギーが局所的に集まって障壁を越えたと考えられる。2 つの結合の解離エネルギー評価については、ポスター発表 2P114^[7]にて詳細に議論を行う。真空条件では、エネルギー移動を伴う電荷移動によって鎖が切断するという結果が得られていたが、この系では電荷移動はほとんど起こらなかった。カウンターカチオンの存在により分子内の電子移動が抑制されたためと考えられる。

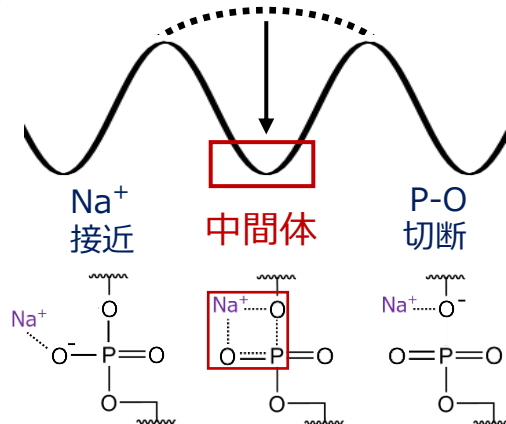


図 3 P-O 切断のポテンシャルエネルギー曲線（点線は Na^+ が無い場合）

次に、カウンターカチオンの種類による切断への影響を調べるために、 Na^+ を全て K^+ または Mg^{2+} に置き換えて同じ計算条件で MD を行った。その結果、数十ピコ秒経過しても鎖切断は全く起こらなかった。 K^+ は Na^+ よりもイオン半径が大きく立体的に中間体構造が形成されにくいという理由が考えられる。また、 Mg^{2+} は価数が大きく溶媒中の複数の水分子と水和し、リン酸基に接近できなかったためである。

Mg^{2+} のように、通常、生体内のカウンターカチオンは十分に水和された状態で存在する。しかし、 Na^+ を複数の水分子で囲んで配置し MD を行っても、 Na^+ は安定な水和構造を作ろうとせず、“裸” のカチオンのまま動く様子が見られた。 Na^+ では脱水和に必要なエネルギーが小さく、鎖に接近することでリン酸基と中間体を作る可能性が高いと考えられる。

図 2 のモデルは結晶水のみを含んでおり、水和の効果を議論するには不十分であったため、新たに図 4 のような 4 塩基対二本鎖 DNA $d[(\text{AAAA})_2]$ の両端をリンカー（ヘキサエチレングリコール）で架橋したモデル DNA を用いることにした。当日はこの MD の結果や考察を含め、水和されたカチオンが DNA 鎖切断に与える影響について詳細に議論する。

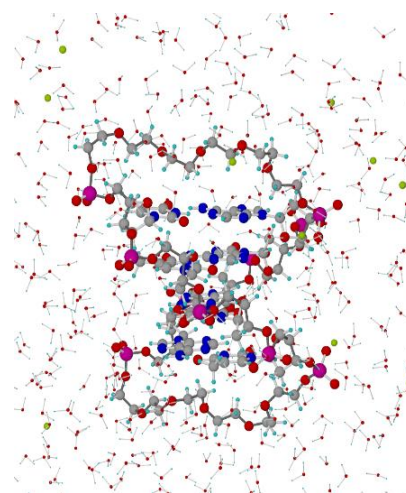


図 4 十分な水に囲まれた 4 塩基対のモデル DNA（鎖以外は縮小表示）

- [1] B. Boudaiffa et al., *Science* **287**, 1658 (2000). [2] J. Rak et al., *J. Phys. Chem. B* **115**, 1911 (2011).
 [3] ○菱沼直樹、菅野学、木野康志、秋山公男、河野裕彦、第 9 回分子科学討論会、口頭発表 **2E10**.
 [4] PDB ID: 355D, X. Shui, L. McFail-Isom, G. G. Hu, and L. D. Williams, *Biochemistry* **37**, 8341 (1998).
 [5] M. Elstner et al., *Phys. Rev. B* **58**, 7260 (1998). [6] M. Gaus et al., *J. Chem. Theory Comput.* **7**, 931 (2011).
 [7] ○菱沼直樹、及川啓太、菅野学、木野康志、秋山公男、河野裕彦、第 10 回分子科学討論会、ポスター発表 **2P114**.